

Aus dem Institut für Arbeits- und Sozial-Medizin
der Universität Erlangen-Nürnberg
(Direktor: Professor Dr. med. H.Valentin)

**Praktikabilität, Zuverlässigkeit und Dignität
der Hämvorläuferbestimmung bei der Überwachung
Bleiexponierter**

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
der Hohen Medizinischen Fakultät
der Friedrich-Alexander-Universität
Erlangen-Nürnberg

vorgelegt
von
Christa Kade
aus
Hersbruck

D 29

1970



Dekan:

Prof. Dr. med. G. Koch

Referent:

Prof. Dr. med. H. Valentin

Praktikabilität, Zuverlässigkeit und Dignität der Hämvorläuferbestimmung bei der Überwachung Bleiexponierter

G. LEHNERT, CH. KADE*, D. SZADKOWSKI und K.-H. SCHALLER

Institut für Arbeits- und Sozialmedizin der Universität Erlangen-Nürnberg
(Direktor: Prof. Dr. med. H. Valentin)

Eingegangen am 1. Juli 1969

Practicability, Reliability, and Dignity of the Determination of Haemprecursors in the Supervision of Lead Exposed Workers

Summary. Determinations of urinary CP and ALA are usually screening tests in the supervision of lead exposed workers. For the determination of CP the quantitative method by Reinkingh, the semiquantitative method by Mappes, and the rapid test by Hoschek are frequently used. For the determination of ALA recently the method of Grabecki is used. The subject of this paper was to examine these methods with regard to their reliability. By means of statistical tests it was demonstrated that the methods by Reinkingh and Mappes are quite satisfactory for the purposes of a screening program, but the method by Hoschek is not so. Being highly specific for the action of lead the ALA estimated by the method of Grabecki has a very good reliability ($v=1,9\%$). In subjects professionally not exposed to lead the amounts of ALA were below 10 mg/gm creatinine ($\bar{x}$: 4.3 mg/gm creatinine, s : 1.48).

Urinary ALA and blood lead levels of 265 workers exposed to lead in two plants were determined. According to the results of analyses of regression it was supposed that the determination of ALA is of no value for a works-condition-test regarding to the amount of lead exposure but quite well a criterion for the type of exposure.

Zusammenfassung. Die Bestimmung der Koproporphyrin- und ALA-Ausscheidung ist heute vielfach fester Bestandteil eines Suchprogramms bei der Überwachung Bleigefährdeter. Dabei werden die entsprechenden Methoden oft kritiklos und ohne Kenntnis der analytischen Zuverlässigkeit eingesetzt. In der vorliegenden Arbeit sollten die gebräuchlichsten Verfahren, die quantitative Koproporphyrinbestimmung nach Reinkingh (1964), die halbquantitative Porphyrinbestimmung nach Mappes (1966) und der Porphyrinschnelltest nach Hoschek (1955) sowie die ALA-Bestimmung nach Grabecki u. Mitarb. (1967) hinsichtlich ihrer Zuverlässigkeit geprüft werden.

Mit Hilfe statistischer Prüfverfahren ließ sich nachweisen, daß die Methoden nach Reinkingh und Mappes dem Zweck einer Routineuntersuchung durchaus noch angepaßt sind, während die Methode nach Hoschek selbst als Suchtest mit einem zu großen subjektiven Fehler behaftet ist.

Die für eine Bleiintoxikation wesentlich spezifischere ALA-Ausscheidung im Harn zeigt bei der Bestimmung nach der Methode von Grabecki (1967) eine sehr gute Genauigkeit ($v=1,9\%$). Bei einem beruflich nicht bleibelasteten Kollektiv ($n=86$) ergab sich eine mittlere ALA-Ausscheidung von 4,3 mg/g Kreatinin ($s=$

* D 29

1,48), aus der eine obere Toleranzgrenze von 10 mg ALA/g Kreatinin ($p < 0,001$) errechnet wurde.

Die Brauchbarkeit der Untersuchung der ALA-Ausscheidung wurde an 265 beruflich Bleigefährdeten zweier Betriebe bei gleichzeitiger Bestimmung des Blutbleispiegels geprüft. Für beide Teilkollektive ergaben sich für die ALA-Ausscheidung folgende Mittelwerte:

	ALA (mg/g Kreatinin)	Pb (II) ($\mu\text{g}\cdot\%$)
A:	$10,2 \pm 6,0$	$47,3 \pm 24,8$
B:	$12,0 \pm 5,6$	$26,0 \pm 12,4$

Aufgrund der Regressionsanalysen erwies sich die ALA-Bestimmung im Sinne eines works condition tests für eine Aussage über die Höhe einer Bleibelastung ungeeignet, besitzt aber eine Dignität für deren Form.

1. Einleitung

Im Rahmen einer arbeitsmedizinisch-toxikologischen Überwachung beruflich Bleigefährdeter ist für eine Abschätzung der aktuellen Bleilast der Blutbleispiegel ein adäquater Parameter. Eine *periodische* Messung dieser Größe in relativ kurzen Zeitabständen gibt darüber hinaus Auskunft über die dynamischen Vorgänge der Bleibelastung und damit auch über den Grad der individuellen bleibedingten Schädigung (Lehnert, 1968). Die *einmalige* Bestimmung des Blutbleispiegels gestattet jedoch nicht eine Beurteilung des Vergiftungsgrades des Organismus. Hierfür sind solche biochemischen Vorgänge heranzuziehen, von denen eine Alteration durch das Schwermetall bekannt ist.

Nach gegenwärtigen Kenntnissen gilt als Primärursache klinisch objektivierbarer Pb(II)-Schäden die Enzymeffektivität dieses Metalls. Bisher sind jedoch aus methodischen Gründen Aktivitätsmessungen der betroffenen Enzyme nicht oder nur mit erheblichem Aufwand möglich. Relativ leicht zugänglich sind dagegen die enzymabhängigen Substratgruppen des von Pb(II) vornehmlich gestörten hämatopoetischen Systems. Hier ist seit vielen Jahren die Harnausscheidung des Koprotoporphyrins (KP) in der Diskussion. Daneben rückt eine Bestimmung der für die Bleiintoxikation spezifischeren δ -Aminolävulinsäure (ALA) durch methodische Vereinfachungen immer mehr in den Vordergrund.

Für die Bestimmung dieser Hämvorläufer sind zahlreiche Methoden angegeben worden. Bei der periodischen Überwachung Bleigefährdeter eignen sich aus methodischen Gründen nur wenige Verfahren. In der vorliegenden Arbeit sollten daher einige weniger aufwendige und damit praxisgerechte Methoden auf eine ausreichende analytische Zuverlässigkeit geprüft werden.

2. Einfluß von Pb (II) auf das hämatopoetische System

Aufgrund zahlreicher Untersuchungen kann es als gesichert gelten, daß resorbiertes Pb(II) im Blut zu etwa 95 % an die Erythrocytenmembran gebunden ist

(Literatur bei Lehnert, 1968). Nach Heilmeyer (1964) gelangt das Metall aber auch relativ leicht in das Zellinnere der Erythrocyten oder ihrer Vorstufen und damit an den Ort der Hämsynthese. Dabei wird eine im Gegensatz zu anderen Schwermetallen bestehende Fähigkeit des Bleis diskutiert, sich durch Blockade der Grenzflächenstruktur aufrechterhaltenden Enzyme selbst den Weg in das Zellinnere zu bereiten. Die Eigenschaft des Pb(II), kompetitiv hemmend auf die Aktivität einzelner Enzyme zu wirken, begründet sich teilweise in der Bildung beständiger Mercaptide mit Thiolgruppen, so daß Bleiionen als Prototyp eines Inhibitors SH-haltiger Enzyme gelten. Derartige Fermente sind u. a. an mehreren Stellen der Hämoglobin-Biosynthese beteiligt. Bei ihrer Hemmung kommt es also zu einem Aufstau verschiedener Häm-vorläufer. So wirkt Pb(II) z. B. inhibierend auf die δ -Aminolävulinsäure-Dehydratase, von der die Umwandlung der δ -Aminolävulinsäure in Porphobilinogen (PBG) abhängt. Auch die Decarboxylasen, die den Umbau von Uroporphyrinogen III (UPG III) in Koproporphyrinogen III (KPG III) und weiter zum Protoporphyrin 9 (PP 9) beeinflussen, können durch Pb(II) blockiert werden. Entsprechendes gilt für die Häm-Synthetase, die den Einbau des Fe(II) in das PP 9 katalysiert. Aus einer Hemmung dieser Fermente resultiert dann eine Konzentrationszunahme der ALA, des UPG (III) oder des KPG (III). Letztere werden aber sehr leicht zu Uroporphyrin III (UP III) oder Koproporphyrin III (KP III) autoxydiert, wodurch die bei einer Bleivergiftung schon lange bekannte gesteigerte KP-Ausscheidung erklärt wird. Während eine Koproporphyrinurie bei Vergiftungen anderer Art, bei Lebererkrankungen und verschiedenen Anämieformen möglich ist (Lachnit, 1962) hat sich eine vermehrte ALA-Ausscheidung im Harn als weitgehend pathognomonisch für eine Pb(II)-Vergiftung erwiesen (Haeger, 1960; Gattner und Schrantz, 1964). Sie ist dabei der Menge des metabolisch aktiven Pb(II) direkt proportional (Cramer und Selander, 1965) und erscheint nach Kleinstein u. Mitarb. (1963) sowie De Bruin und Hoolboom (1967) im Harn früher vermehrt als die Porphyrinkörper.

3. Porphyrinbestimmung im Harn

Zum qualitativen, halbquantitativen und quantitativen Nachweis der Porphyrine im Harn sind zahlreiche Verfahren entwickelt worden. Zur Eliminierung von störenden Substanzen ist in der Regel eine mehr oder minder komplette Isolierung der Porphyrinkörper notwendig, insbesondere durch chromatographische Methoden wie:

Extraktion in organische Lösungsmittel (De Langen, 1948; Rimington, 1950).

Säulenchromatographie (Rimington, 1967).

Papierchromatographie (Chu und Chu, 1967).

Dünnschichtchromatographie (Formanek, 1966; Mundschenk, 1966, 1968; Doss, 1967; Scott, 1967; Ellfolk, 1966).

Vereinzelt wurde auch eine elektrophoretische Abtrennung beschrieben (Ippen, 1962, 1964).

Die Endpunktbestimmung erfolgt entweder spektralphotometrisch oder fluorimetrisch.

Ein Großteil dieser Methoden wurde für die klinisch-differentialdiagnostischen Zwecke entwickelt, die zur Abschätzung ihrer Relation eine Abtrennung der einzelnen Porphyrine voneinander erforderlich

machen. Für ein arbeitsmedizinisch-toxikologisches Überwachungsprogramm erscheint von der Pathogenese einer beginnenden Bleiintoxikation her die Erfassung des gesamten Porphyrinkörperspektrums nicht notwendig. Als ausreichender Parameter gilt hierfür die Ausscheidung von KPG oder KP. Dadurch kann man sich hier unter Verzicht auf subtilere Verfahren einfacherer Schnellmethoden bedienen.

In der Bundesrepublik haben sich vor allem die quantitative KP-Bestimmung nach Reinkingh (1964), die halbquantitative Analyse nach De Langen in der Modifikation nach Mappes (1966) und der Suchtest nach Hoschek (1955) eingebürgert. Da in den entsprechenden Originalarbeiten auf die Zuverlässigkeit nur ungenügend eingegangen wird, sollen im folgenden die 3 Methoden in dieser Hinsicht überprüft werden.

a) Quantitative Koproporphyrinbestimmung im Harn nach Reinkingh (1964)

α) Prinzip der Methode

Das KP wird bei schwach essigsaurer Reaktion aus dem Harn extrahiert und nach Reinigung aus der organischen Phase mit verdünnter Salzsäure ausgeschüttelt. KPG wird gleichfalls extrahiert, zeigt jedoch bei der spektralphotometrischen Messung eine andere Lage des Absorptionsmaximums.

β) Reagentien

Eisessig p.a. (Merck 60).

Diäthyläther p.a. (Merck 921).

Natriumacetat p.a. (Merck 6268) 1%ige wäßrige Lösung.

Salzsäure 0,1 N p.a. (Merck. 9973).

γ) Analysengang

15 ml Urin werden mit 1 ml Essigsäure versetzt und 2mal mit je 15 ml Diäthyläther extrahiert. Eine evtl. Emulsion kann durch Zugabe von 1 ml Äthylalkohol (96%) gebrochen werden. Die vereinigten Ätherextrakte werden mit 10 ml Natriumacetatlösung und 2mal mit je 10 ml Aqua dest. gereinigt. Anschließend wird das KP 3mal mit je 2 ml 0,1 N Salzsäure reextrahiert. Die Extinktion wird in den vereinigten HCl-Extrakten spektralphotometrisch bei 380, 401 und 421 nm gemessen und nach

$$E_{\text{corr}} = \frac{2E_{401} - (E_{380} + E_{421})}{1,843}$$

korrigiert.

Der KP-Gehalt des Urins ist dann $539 \cdot E_{\text{corr}}$ ($\mu\text{g/l}$).

δ) Zuverlässigkeitskriterien

Die Genauigkeit wurde in 2 Konzentrationsbereichen geprüft. Dabei ergaben sich folgende Werte:

	56,4	32,5
	59,4	27,8
	48,4	28,7
	41,0	20,75
$\bar{x}$ ($\mu\text{g/l}$):	51,3	27,44
s ($\mu\text{g/l}$):	8,289	4,90
v (%):	16,15	17,86

*b) Halbquantitative KP-Bestimmung im Harn nach De Langen
in der Modifikation von Mappes (1966)*

α) Prinzip der Methode

KP und KPG werden bei schwach essigsaurer Reaktion aus dem Harn in Äther extrahiert. Durch Belichtung der Ätherphase wird KPG in KP übergeführt. Die Abschätzung des KP-Gehaltes erfolgt visuell entsprechend der Intensität der Rotfluoreszenz vor einer Quarzlampe im Dunkeln.

β) Reagentien

Essigsäure p.a. (Merck 60).

Diäthyläther p.a. (Merck 921).

γ) Analysengang

10 ml Harn werden mit 1 ml Eisessig versetzt und in 10 ml Äther extrahiert. Eine evtl. Emulsion läßt sich durch Zusatz von 1 ml Eisessig und 0,1 g Na-Acetat brechen. Die Ätherphase wird 3 Std lang belichtet. Ausreichend ist das Licht einer 60 W-Glühbirne im Abstand von 25 cm.

Für die Analyse ist frischer Harn erforderlich. Ist die Untersuchung nicht direkt im Anschluß an die Harnentleerung möglich, kann der Harn einige Stunden im Dunkeln aufbewahrt werden, ohne Beeinträchtigung des Meßergebnisses. Für ein längeres Intervall (maximal 48 Std) wird der Harn mit $\frac{1}{30}$ Volumen einer 10%igen Natriumbicarbonatlösung versetzt, mit $\frac{1}{5}$ Volumen Essigsäureäthylester geschüttelt und im Dunkeln aufbewahrt.

Die belichteten Ätherextrakte werden im UV-Licht beurteilt.

Die Fluoreszenz der Ätherextrakte wird entsprechend der in Tabelle 1 aufgeführten Farbabstufungen bewertet. Den einzelnen Stufen hat Mappes relativ weite, sich überlappende Konzentrationen zugeordnet (Tabelle 1).

*Tabelle 1. Fluoreszenzstufen nach Mappes (1967) für die Beurteilung
des KP-Gehaltes*

blau oder grün	— —		
lila	(+)	bis	100 γ /l
lila-rosa	+	200—	500 γ /l
rosa-rot	++	500—1000	γ /l
rot	+++	1000—2000	γ /l
signalrot	++++	über	2000 γ /l

δ) Prüfung der analytischen Zuverlässigkeit

Frischer Sammelurin beruflich nicht Bleiexponierter wurde mit einer bestimmten Menge Hämatoporphyrin versetzt. Aus dieser Stammlösung wurden an drei aufeinanderfolgenden Tagen mit demselben Harn je 2 Verdünnungsreihen mit einem Porphyringehalt von 100, 300, 500, 600, 800, 900, 1000, 1500, 2000 μ g/l angefertigt. Die Ätherextrakte der einen Reihe dienten bei der Auswertung der zweiten Verdünnungsreihe, deren Porphyringehalt dem Untersucher unbekannt war, als Bezug. Mappes (1966) empfiehlt zwar nur die gelegentliche Benutzung derartiger Vergleichslösungen, im Hinblick auf gleiche Voraussetzungen bei den Untersuchern wurden die Bezugskonzentrationen hier aber bei jeder Schätzung verwendet.

In dieser Weise haben 6 Untersucher an 3 Tagen den Porphyringehalt der anderen Verdünnungsreihe zu bestimmen versucht. Die so gewonnenen Werte wurden zu den effektiven Konzentrationen in Beziehung gesetzt und statistisch aufgearbeitet.

Naturgemäß werden bei einem derartigen auf einem visuellen Vergleich von Farbabstufungen beruhenden Verfahren eventuelle objektive Fehler durch die Subjektivität des Farbumterscheidungsvermögens überlagert. Das adäquate Verfahren, den Einfluß einer Subjektivität des Untersuchers zu prüfen, ist hier eine Varianzanalyse mit einer 2-Faktor-Kreuzklassifikation (Weber, 1967). Die Beobachtungsdaten sind in diesem Fall nach 2 Merkmalen — Untersucher (A) und vorgegebene Konzentration (B) — zu ordnen.

Erteilt man den einzelnen Stufen des Faktors A den Index i und denen des Faktors B den Index j , so ist

$$\begin{array}{ll} j = 1, \dots, I & I = 6 \\ i = 1, \dots, J & J = 9 \end{array}$$

und entsprechend den Wiederholungen

$$k = 1, \dots, K \quad K = 3.$$

Ist

- α_i die Hauptwirkung des Faktors A ,
- β_j die Hauptwirkung des Faktors B ,
- $(\alpha\beta)_{ij}$ die Wechselwirkung der Faktoren AB ,

dann ist das Modell der Varianzanalyse

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + \varepsilon_{ijk},$$

wobei

Y_{ijk} die einzelnen Beobachtungen und
 ε den nicht weiter zerlegbaren Versuchsfehler darstellen.

Für die Durchführung der Varianzanalyse werden folgende Quadratsummen mit den entsprechenden Abkürzungen benötigt:

$$\frac{Y^2 \dots}{IJK} = (1)$$

$$\frac{\sum_{i=1}^J Y_{i..}^2}{JK} = (i)$$

$$\frac{\sum_{j=1}^I Y^2 \cdot j}{IJK} = (j)$$

$$\frac{\sum_{i=1}^I \sum_{j=1}^J Y_{ij.}^2}{K} = (ij)$$

$$\sum_{i=1}^I \sum_{j=1}^J \sum_{k=1}^K Y_{ijk}^2 = (ijk).$$

Man erhält dann folgende Tabelle der Varianzanalyse (Tabelle 2):

Tabelle 2

Effekt	SQ	FG	MQ	F
A	$(i)-(1)$	$I-1$	MQ_A	$\frac{MQ_A}{MQ_\varepsilon}$
B	$(j)-(1)$	$J-1$	MQ_B	$\frac{MQ_B}{MQ_\varepsilon}$
AB	$(ij)-(i)-(j)+(1)$	$(I-1)(J-1)$	MQ_{AB}	$\frac{MQ_{AB}}{MQ_\varepsilon}$
ε	$(ijk)-(ij)$	$IJ(K-1)$	MQ_ε	

SQ = Summe der Quadrate, FG = Freiheitsgrade, MQ = mittlere Quadrate, F = Prüfquotienten (F -verteilt).

Hinsichtlich der Einzelheiten dieses Verfahrens muß auf Ostle (1966) und Weber (1967) verwiesen werden. Führt man nach dem angegebenen Rechenschema die Varianzanalyse mit den Beobachtungsdaten durch, so erhält man die nachstehende Analyse, wobei die Einzelwerte zur Vereinfachung der Berechnung mit 10^{-2} multipliziert wurden (Tabelle 3)

Der statistisch hochsignifikante Effekt B kennzeichnet den Einfluß der unterschiedlichen Konzentrationen der Verdünnungsreihe. Dieser zu erwartende Effekt sollte durch die Kreuzklassifikation eliminiert werden und braucht nicht weiter diskutiert zu werden. Der in erster Linie zu prüfende Einfluß einer Subjektivität der einzelnen Untersucher wird durch den Faktor A repräsentiert, der sich hier als nichtsignifikant erweist. Damit ist gesichert, daß der gleiche Porphyringehalt der Harnproben von den Untersuchern annähernd gleich geschätzt wurde. Dies gilt für den gesamten geprüften Konzentrationsbereich, da ein Einfluß der Wechselwirkung von Untersucher und Porphyrinkonzentration (Effekt AB) nicht gesichert werden konnte.

c) Halbquantitative Porphyrin-Schnellbestimmung im Harn nach Hoschek (1955)

α) Prinzip der Methode

Die Eigenfluoreszenz des Harns wird durch Zugabe von Ehrlichs Aldehydreagens gelöscht. Die im UV-Licht auftretende Rotfluoreszenz der Porphyrine im Harn wird — ohne Extraktion — durch einen Rotfilter nach dem Prinzip der gekreuzten Filter nach Stockes durch den Vergleich mit einer im Handel erhältlichen Testschiene beurteilt.

β) Reagentien

Ehrlichs Reagens: 2%ige Lösung von p-Dimethylaminobenzaldehyd in 20%iger Salzsäure.

γ) Analysengang

5 ml Harn werden mit 0,2 ml Ehrlichs Aldehydreagens gemischt. Nach etwa 10 min wird die Fluoreszenz am Boden der auf einer UV-Lichtquelle (Elwalux-Leuchtplatte, Fa. B. Hermle, Stuttgart-Degerloch) stehenden Bechergläser durch ein Rotfilter mit der Testschiene verglichen. Diese weist die in Tabelle 5 wiedergegebenen Fluoreszenzstufen auf.

Tabelle 3

<i>i</i>	<i>k</i>	<i>j</i>									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	
1	1	1	5	6	3	10	8	9	15	20	77
	2	1	3	5	5	9	6	8	10	20	67
	3	3	9	5	6	8	3	10	15	20	79
		5	17	16	14	27	17	27	40	60	223
2	1	0	1	5	5	8	1	3	13	15	51
	2	3	8	8	6	6	8	9	9	20	77
	3	3	9	3	9	6	5	15	1	20	71
		6	18	16	20	20	14	27	23	55	199
3	1	1	3	5	9	9	15	10	15	20	87
	2	1	3	5	5	9	8	10	15	20	76
	3	3	1	5	6	3	1	8	15	20	62
		5	7	15	20	21	24	28	45	60	225
4	1	1	3	3	6	10	10	9	15	20	77
	2	3	6	8	6	10	8	9	15	20	85
	3	1	3	1	8	6	8	15	10	20	72
		5	12	12	20	26	26	33	40	60	234
5	1	5	6	3	10	8	9	15	15	20	91
	2	1	3	5	6	6	8	8	15	20	72
	3	3	6	5	6	10	9	15	15	20	87
		9	15	13	22	24	26	36	45	60	250
6	1	3	3	6	5	8	3	5	15	15	63
	2	5	1	6	6	6	8	9	10	20	71
	3	1	5	8	3	10	10	15	15	20	87
		9	9	20	14	24	21	29	40	55	221
		39	78	92	110	142	128	180	233	350	1352

(1) = 11283,35802; (*i*) = 11335,25925; (*j*) = 15217,00; (*ij*) = 15486,6666;
(*ijk*) = 16236,00.

Tabelle 4

	<i>SQ</i>	<i>FG</i>	<i>MQ</i>	<i>F</i>
<i>A</i>	51,90123	5	10,38024	0,99739
<i>B</i>	3933,64198	8	491,70524	47,24573***
<i>AB</i>	217,7654	40	5,44413	0,5231
<i>ε</i>	749,333	72	10,40740	

F***: $p < 0,001$.

Tabelle 5. *Fluoreszenzstufen nach Hoschek (1955) für die Beurteilung des KP-Gehalts*

0 entsprechend Leerwert
 30 entsprechend 300 µg/l
 60 entsprechend 600 µg Porphyrin/l
 100 entsprechend 1000—2000 µg/l
 200 entsprechend 2000 µg/l und mehr

Tabelle 6

<i>i</i>	<i>k</i>	<i>j</i>										
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
1	3	2	4	3	4	6	9	8	9	20	15	80
		1	3	4	8	12	10	8	8	20	18	92
		3	6	4	8	4	15	10	8	20	18	96
		6	13	11	20	24	34	26	25	60	51	270
2	3	3	6	10	8	11	10	9	10	15	20	102
		3	6	8	8	8	10	8	15	15	20	101
		6	8	10	10	15	15	18	20	20	20	142
		12	20	28	26	34	35	35	45	50	60	345
3	3	2	6	10	10	12	8	10	10	15	8	91
		5	6	15	20	10	8	18	6	8	12	108
		5	18	10	15	12	8	12	20	10	8	118
		12	30	35	45	32	24	40	36	33	28	315
4	3	1	3	5	6	8	9	10	15	18	20	95
		1	3	5	6	8	9	10	10	18	20	90
		1	5	9	6	10	8	10	15	18	20	102
		3	11	19	18	26	26	30	40	54	60	287
5	3	2	6	8	15	15	18	20	15	20	10	129
		3	10	6	8	8	10	12	12	20	15	104
		1	6	6	15	8	10	9	15	18	12	100
		6	22	20	38	31	38	41	42	58	37	333
6	3	1	4	5	6	9	8	10	14	19	20	96
		1	3	5	6	8	9	9	13	16	19	89
		1	9	8	8	4	8	20	11	18	15	102
		3	16	18	20	21	25	39	38	53	54	287
		42	112	131	167	168	182	211	226	308	290	1837

(1) = 18747,6055; (*ij*) = 23077,6666; (*i*) = 18892,5666; (*ijk*) = 24087,000;
 (*j*) = 21959,2777.

δ) Prüfung der analytischen Zuverlässigkeit

Aus frischem Sammelharn als Stammlösung wurden an drei aufeinanderfolgenden Tagen analog Kap. 3, b, δ Verdünnungsreihen mit einer Porphyrinkonzentration von 0, 100, 300, 500, 600, 800, 900, 1000, 1500, 1800 und 2000 $\mu\text{g/l}$ angefertigt. Entsprechend der Arbeitsvorschrift von Hoschek haben 6 Untersucher den Porphyringehalt zu bestimmen versucht. Die so gewonnenen Werte wurden nach Kap. 3, b, δ aufgearbeitet.

Tabelle 7

	<i>SQ</i>	<i>FG</i>	<i>MQ</i>	<i>F</i>
<i>A</i>	144,9611	5	28,9922	3,4468 **
<i>B</i>	3211,6722	9	356,8524	42,4263 ***
<i>AB</i>	973,4278	45	21,6317	2,5718 **
ϵ	1009,3334	120	8,4111	

F **: $p < 0,01$.

F ***: $p < 0,001$.

Auch hier ist der statistisch hochsignifikante Effekt *B* durch den Einfluß der unterschiedlichen Konzentration der Verdünnungsreihe gekennzeichnet. Im Gegensatz zu den bei der Methode von Mappes gewonnenen Ergebnissen ist jedoch der Effekt der einzelnen Untersucher (Faktor *A*) statistisch gesichert. Damit ist evident, daß der gleiche Porphyringehalt der Urinproben von den verschiedenen Untersuchern different geschätzt wurde. Außerdem hängt der Ablesefehler von den unterschiedlichen Konzentrationsbereichen des Porphyrins ab, wie die Signifikanz der Wechselwirkung *AB* zeigt.

4. Bestimmung der δ -ALA im Harn

Bis vor wenigen Jahren standen einer einfachen und zuverlässigen ALA-Bestimmung im Harn erhebliche methodische Schwierigkeiten entgegen. So war nach dem Verfahren von Mauzerall und Granick (1956), das von Williams und Few (1967) geringfügig abgeändert wurde, eine zeitraubende säulenchromatographische Reinigung erforderlich. Diese kann jetzt durch eine von Grabecki u. Mitarb. (1967) publizierte vereinfachende Modifikation umgangen werden, ohne daß nach den bisherigen Mitteilungen die Richtigkeit der Meßergebnisse beeinträchtigt wird. Eine weitere Erleichterung, insbesondere für Routineuntersuchungen, dürfte der von Davis (1967) vorgeschlagene Weg unter Verwendung industriell vorgefertigter Säulen mit Austauscherharzen bringen. Dieser Reagentiensatz ist in der Bundesrepublik jedoch noch nicht erhältlich¹. Im Folgenden sei daher auf die ALA-Bestimmung nach Grabecki u. Mitarb. näher eingegangen, für die einerseits Zuverlässigkeitskriterien und Toleranzbereiche erarbeitet sowie andererseits die Brauchbarkeit für arbeitsmedizinische Überwachung Bleigefährdeter geprüft werden sollten.

¹ Während der Drucklegung konnten wir mit diesem Reagentiensatz Zuverlässigkeitsprüfungen durchführen (Arbeitsmed. Sozialmed. Arbeitshyg., im Druck).

a) Bestimmung der ALA im Harn nach Grabecki u. Mitarb. (1967)

 α) Prinzip der Methode

Die im Harn ausgeschiedene ALA kondensiert mit Acetylaceton bei Wärmezufuhr zu einem Pyrrolring, der mit p-Dimethylaminobenzaldehyd (DMAB) im sauren Milieu einen spektrophotometrisch nachweisbaren Farbkomplex bildet. Durch die Verwendung von Acetylaceton statt des von Schuster (1956) vorgeschlagenen Äthylacethylacetats wird der Einfluß u.a. von Aminosäuren, Ammoniak und Glucosamin auf die Farbreaktion vermindert. Obwohl PBG ebenfalls einen Farbkomplex mit der p-Dimethylaminobenzaldehydlösung gibt, soll ein hieraus entstehender Fehler nach Grabecki u. Mitarb. aufgrund der Leerwertbestimmung vernachlässigbar klein sein.

 β) Reagentien

Acetylaceton		(Merck 9600)	
Acetatpuffer:	Na-acetat krist.	(Merck 6265)	136 g
	Eisessig p.a.	(Merck 60)	57 ml
	Aqua dest.		ad 1000 ml

p-Dimethylaminobenzaldehydlösung (DMAB)

Eisessig	(Merck 60)	30 ml
p-DMAB	(Merck 3058)	1 g
Nach Auflösen		
Perchlorsäure, 70%	(Merck 519)	8 ml
Eisessig	(Merck 60)	ad 50 ml

Bei Zimmertemperatur 5—6 Std haltbar.

 γ) Analysengang

1 ml Harn wird mit 0,2 ml Acetylaceton versetzt und im Meßkolben mit Acetatpuffer auf 10 ml aufgefüllt. Nach 10minütigem Erhitzen im siedenden Wasserbad wird das Gemisch unter fließendem Wasser abgekühlt und mit dem gleichen Volumen p-DMAB-Lösung versetzt. Nach weiteren 15 min wird die Extinktion spektralphotometrisch bei einer Wellenlänge von 553 nm und einer Schichtdicke von 2 cm gemessen.

Für die Bestimmung des Leerwertes wird 1 ml desselben Urins in gleicher Weise aufgearbeitet, wobei lediglich das Acetylaceton wegfällt.

Zur Herstellung einer Eichstammlösung werden 100 ml Harn mit 127,8 mg ALA-HCl versetzt, sie enthält also 1 mg ALA/ml. Die daraus durch Verdünnung mit demselben Harn hergestellten Eichlösungen (0,5; 1; 2; 4; 5 mg-%) werden wie oben angegeben aufgearbeitet.

 δ) Zuverlässigkeitskriterien

Die Reproduzierbarkeit und damit die Genauigkeit wurde durch Berechnung des Pearsonschen Variabilitätskoeffizienten aus 10 Bestimmungen des gleichen Harns geprüft.

Die Bestimmung ergab folgende Werte:

21,5	22,5	
22,5	22,0	
21,5	22,1	$\bar{x} = 21,93$ mg ALA/l
21,5	22,3	$s = 0,416$ mg ALA/l
21,9	21,5	

Daraus errechnet sich der Variabilitätskoeffizient:

$$v = 1,899\%.$$

Die *Richtigkeit* der Methode ist durch Wiederauffindungsversuche kontrolliert worden. Nach Zugabe bekannter Mengen von ALA und Subtraktion der Ausgangskonzentrationen in den entsprechenden Harnproben zeigten sich folgende Resultate:

Zugesetzt	Wiedergewonnen	
($\mu\text{g/l}$)	($\mu\text{g/l}$)	(%)
5	5	100
10	9,5	95 $\bar{x} = 98,23\%$
20	19,5	97,5 $s = 2,5\%$
40	41,0	100,4

Weiterhin wurde die *Zeitabhängigkeit* der Analysenergebnisse dadurch untersucht, daß der ALA-Gehalt des gleichen Urins an 4 aufeinanderfolgenden Tagen bestimmt wurde. Dabei ergaben sich folgende Werte:

	1. Tag	2. Tag	3. Tag	4. Tag
	17,0	16,3	15,3	15,3
	16,7	16,5	15,6	15,5
	17,5	16,1	15,0	15,0
	16,3	15,5	15,8	15,0
	16,5	15,7	14,8	14,7
	16,7	15,0	15,3	15,0
$\bar{x}$: (mg ALA/l)	16,78	15,85	15,3	15,08
s : (mg ALA/l)	0,421	0,557	0,368	0,279

e) Normwertfindung und Untersuchung an beruflich Bleiexponierten

Die ALA-Bestimmung nach Grabecki u. Mitarb. (1967) wird unter anderem von Schlegel (1968) bereits für die Überwachung Bleigefährdeter eingesetzt. Normwerte der mit dieser Methode bestimmten ALA-Ausscheidung sind bisher jedoch noch nicht veröffentlicht worden. Zur Normwertfindung wurde daher in der vorliegenden Arbeit der Urin beruflich nicht Bleibelasteter herangezogen. Durch Untersuchung eines Kollektivs Bleibelasteter unterschiedlichen Gefährdungsgrades wurde weiterhin die Brauchbarkeit der ALA-Bestimmung nach Grabecki (1967) geprüft.

Stichprobenauswahl. Zur Normwertgewinnung wurden Bestimmungen der ALA in Urinproben von 86 gesunden Erwachsenen durchgeführt. Gleichzeitig wurden die Kreatininausscheidungen gemessen.

Ferner sind die ALA-Ausscheidungen, der Kreatiningehalt des Harns und der Blutbleispiegel bei 265 Bleiexponierten zweier Betriebe bestimmt worden. Es handelte sich dabei um Angehörige eines elektrotechnischen Werkes (Betrieb A, $n = 127$) und um Bleibelastete (Betrieb B, $n = 138$) der städtischen Werke einer westdeutschen Großstadt.

Untersuchungsgang. Die ALA-Messungen erfolgten nach der oben beschriebenen Methode nach Grabecki u. Mitarb. (1967). Die Kreatininbestimmung wurde nach Jaffe durchgeführt. Der Blutbleispiegel wurde atomabsorptionsspektrometrisch (Lehnert u. Mitarb., 1969) ermittelt.

Statistische Bearbeitung. Die statistische Auswertung erfolgte nach Ostle (1966) und Weber (1967). Neben der Berechnung von Mittelwerten und Standardabweichungen wurden bei den beruflich Bleiexponierten die ALA-Ausscheidungsraten zu der Höhe des jeweiligen Blutbleispiegels korrelationsanalytisch in Beziehung gesetzt.

Ergebnisse. Die bei den beruflich nicht Bleiexponierten und bei den Bleibelasteten erhaltenen Resultate finden sich als Mittelwerte und Standardabweichungen mit den Ergebnissen weiterer statistischer Analysen (Kap. 5) in Tabelle 8 zusammengefaßt.

Tabelle 8. Mittelwerte und Standardabweichungen des Blutbleispiegels ($\mu\text{g}\%$) und der ALA-Ausscheidung (mg/g Kreatinin) von 86 nicht Bleiexponierten und 265 beruflich Bleiexponierten zweier Betriebe. Bezüglich der weiteren statistischen Größen vgl. Kap. 5

Blei-Betrieb		Pb (II)	ALA
—	n	—	86
	$\bar{x}$		4,33
	s		1,48
A + B	n	265	265
	$\bar{x}$	36,2	11,1
	s	22,07	5,84
	y'	$y' = 18,1 + 0,03 x$	
	r		
			0,1027
A	n	127	127
	$\bar{x}$	47,3	10,2
	s	24,8	6,0
	y'	$y' = 6,1 + 0,9 x$	
	r		
			0,3559***
B	n	138	138
	$\bar{x}$	26,0	12,0
	s	12,4	5,6
	y'	$y' = 12,7 - 0,03 x$	
	r		
			- 0,0626
$t_{A, B}$		8,9768***	- 2,5750*

t^* : $p < 0,05$; t^{***} bzw. r^{***} : $p < 0,001$.

5. Diskussion

Unter den Verfahren zur *Porphyrinbestimmung* zeichnen sich alle 3 der hier untersuchten Methoden durch ihre analytische Einfachheit aus. Dabei sollte die Messung des Koproporphyrins nach Reinkingh (1964) als quantitative Methode die größte Zuverlässigkeit aufweisen. Mit einem Variabilitätskoeffizienten von $v = 16,15\%$ ist sie für Routineuntersuchungen durchaus noch tragbar. Der Zeitaufwand von maximal 15 min für die Einzelanalyse wird bei gleichzeitiger Bestimmung von 5 Urinproben nicht wesentlich überschritten.

Wesentlich einfacher hinsichtlich des instrumentellen und zeitlichen Aufwands sind die beiden halbquantitativen Verfahren. Zu ihrer Zuverlässigkeit haben Weichardt u. Mitarb. (1968) durch einen Vergleich

mit der quantitativen Methode nach Rimington (1962) Stellung genommen. Aufgrund einer graphischen Gegenüberstellung kommen die Autoren zu der Ansicht, daß beide Suchtests in gleichem Maße eine Streuung zeigen und für Reihenuntersuchungen von Bleiarbeitern als empfehlenswert zu bezeichnen sind. Andererseits geben sie für beide Methoden einen maximalen Fehler mit zu niedriger Anzeige von 75 % an. Benutzt man die aus den zitierten Abbildungen entnommenen Zahlenwerte² für ein diesem Problem adäquates statistisches Verfahren, so lassen sich für beide Suchtests folgende Regressionsfunktionen bzw. Korrelationskoeffizienten errechnen:

$$\begin{aligned} \text{Methode nach Mappes:} \quad y' &= 318 + 0,46 x \\ r &= 0,619^{***} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Methode nach Hoschek:} \quad y' &= 432 + 0,14 x \\ r &= 0,3836^{***} \end{aligned}$$

In der von Weichardt gewählten Darstellungsform wird der Sollwert durch die 45°-Linie entsprechend einem Regressionskoeffizienten von $b = 1,00$ charakterisiert. Obwohl sich bei unseren Berechnungen beide Regressionskoeffizienten signifikant von Null unterscheiden ($t_M = 6,7937^{***}$, $t_H = 3,5605^{***}$), liegt die Steigung der Regressionsgeraden der Werte von Mappes ($b = 0,46$ entsprechend 24°) der 45°-Linie näher als die der Hoschekschen Werte ($b = 0,14$ entsprechend 8°).

Dieser Unterschied in den Regressionskoeffizienten ist statistisch hochsignifikant ($t = 4,5485^{***}$). Damit liefert die Methode nach Mappes einmal richtigere Ergebnisse und korreliert andererseits mit $r = 0,619$ wesentlich enger mit den Bezugswerten von Rimington als die Methode von Hoschek ($r = 0,3836$).

Die Richtigkeit und die Genauigkeit beider Verfahren wird in erster Linie durch subjektive Fehleinschätzungen der Farbabstufungen bestimmt. Wie durch die varianzanalytische Aufarbeitung der eigenen Analysenergebnisse gezeigt werden konnte, kommt diesem subjektiven Ablesefehler für den Suchtest nach Hoschek eine statistisch gesicherte Bedeutung zu. Dies ist für das Verfahren nach Mappes nicht der Fall. Weichardt kommt zu einer ähnlichen Aussage, wenn er den subjektiven Ablesefehler der Fluoreszenzintensität nach Hoschek im Mittel mit 30 % der vorgegebenen Porphyrinmenge angibt. Einschränkend muß hier jedoch erwähnt werden, daß diese Aussage Weichardts auf den Ergebnissen von nur 2 Untersuchern beruht. Den subjektiven Ablesefehler bei der Methode von Mappes gibt er nicht an.

Ein Einfluß des Alters der Urinproben auf das Ergebnis der Porphyrinbestimmung kann dann von Bedeutung sein, wenn das zu untersuchende Material per Post versandt wird. Bei einer entsprechenden

² Die Zahlenwerte wurden durch photographische Übereinanderprojektion der graphischen Darstellungen mit einem doppeltlogarithmischen Netz abgelesen.

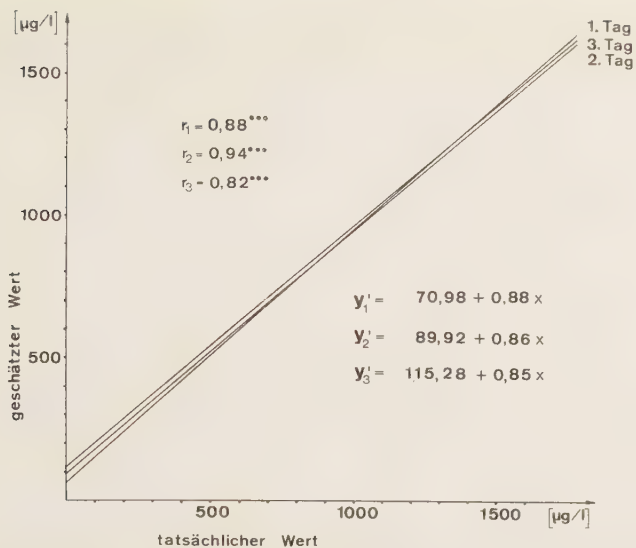


Abb. 1. Beeinflussung des Analysenergebnisses durch das Alter des Urins bei dem Suchtest nach Mappes

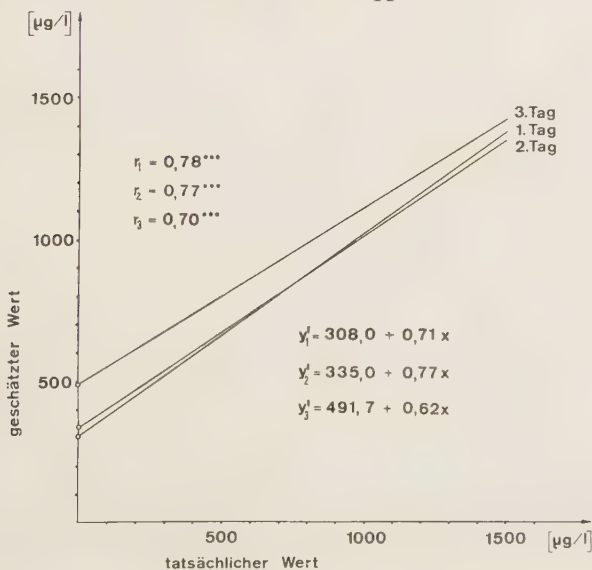


Abb. 2. Beeinflussung des Analysenergebnisses durch das Alter des Urins bei dem Suchtest nach Hoschek

Prüfung ergeben sich nach eigenen Untersuchungen für das Verfahren nach Mappes ebenfalls günstigere Verhältnisse als beim Suchtest nach Hoschek (Abb. 1 und 2).

Nach den vorliegenden Untersuchungsergebnissen bleibt somit festzustellen, daß der Suchtest nach Hoschek selbst als orientierende Schnellbestimmung ungeeignet ist, da mit der Methode nach Mappes und mit nur wenig Mehraufwand mit der Methode nach Reinkingh eine zuverlässigere Aussage gemacht werden kann.

Von dieser Feststellung wird nicht die Frage berührt, ob eine vermehrte Porphyrinausscheidung eine zur Beurteilung der Bleiintoxikation hinreichende Dignität besitzt. In dieser Hinsicht stellt die ALA-Ausscheidung im Harn ein wesentlich spezifischeres Kriterium dar, worauf schon 1957 Haeger und später Gattner und Schrantz (1964) hingewiesen haben. Die Einführung in das arbeitsmedizinische Routinelaboratorium scheiterte aber zunächst an dem methodischen Aufwand, der jetzt mit dem Verfahren nach Grabecki (1967) wesentlich verringert werden kann. Wenn in der vorliegenden Arbeit auf die Zuverlässigkeit dieser Bestimmung näher eingegangen wird, so soll nicht verkannt werden, daß das Verfahren nach Davis (1967) eine größere Rolle spielen könnte, sobald in der Bundesrepublik die entsprechenden Testpackungen erhältlich sind.

Die in Kap. 4, a, δ vorgelegten Ergebnisse lassen erkennen, daß alle geprüften Zuverlässigkeitskriterien für die ALA wesentlich günstigere Werte ergeben, als sie für derartige Screening-Tests zu fordern sind. Wie bei der Porphyrinbestimmung ist es für die Richtigkeit des Analyseergebnisses nicht ganz unerheblich, ob frischer oder alter Urin zur Untersuchung gelangt (Abb. 3). In dieser Hinsicht bestätigen die eigenen Ergebnisse nicht die Beobachtungen von Bossenmaier (1968).

Bei arbeitsmedizinischen Überwachungsuntersuchungen ist die Gewinnung des 24 Std-Harns mit technischen Schwierigkeiten verbunden. Bereits 1960 hatte Haeger-Aronsen daher vorgeschlagen, die in einer Urinprobe gemessene ALA-Menge auf deren Kreatiningehalt zu beziehen. Jede andere Korrektur — insbesondere durch das spezifische Gewicht (Schlegel, 1968) — dürfte wenig sinnvoll sein. Für die Normwertgewinnung wurden daher die in den Harnproben gemessenen ALA-Konzentrationen auf Kreatinin bezogen und als mg ALA/g Kreatinin angegeben. Bei der Untersuchung von 86 beruflich nicht Bleibelasteten ergab sich eine mittlere ALA-Ausscheidung von 4,33 mg/g Kreatinin bei einer Standardabweichung von 1,48. Für die Bestimmung des Normbereiches errechnet sich hieraus eine obere Toleranzgrenze (Irrtumswahrscheinlichkeit 0,001) von 10 mg ALA/g Kreatinin. Alle über dieser Grenze liegenden Einzelwerte können bei der Methode nach Grabecki nicht mehr als normal bezeichnet werden.

Obwohl die Höhe der ALA-Ausscheidung für die Beurteilung des aktuellen Vergiftungsgrades unbestritten ist, muß die Frage offen bleiben, inwieweit die ALA-Ausscheidung ähnlich dem Blutspiegel bei Bleibelasteten als works condition test gelten kann. Zu diesem Zweck wurde

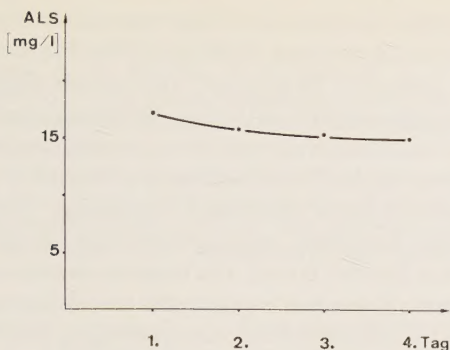


Abb. 3. Abnahme der Aminolävulin säurekonzentration in Abhängigkeit vom Alter des Urins (vgl. auch Kap. 4, a, ö)

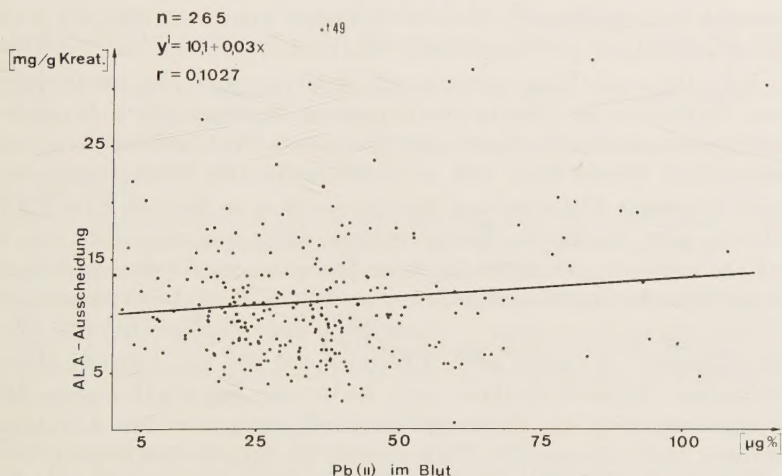


Abb. 4. Korrelation der Kreatinin-bezogenen ALA-Ausscheidung mit der Pb(II)-Konzentration im Blut

bei 265 Bleigefährdeten aus 2 Betrieben geprüft, ob eine Korrelation zwischen der ALA-Ausscheidung und dem Blutbleispiegel besteht.

Die mittlere ALA-Ausscheidung lag bei 11,1 ($s = 5,85$) mg/g Kreatinin und unterscheidet sich mit $t = 10,667^{***}$ vom Mittelwert der nicht bleibelasteten Kontrollpersonen. Der mittlere Blutbleispiegel betrug 36,2 ($s = 22,07$) $\mu\text{g}/100$ ml Vollblut (Norm $14,9 \pm 4,8 \mu\text{g} \%$ [Lehnert, 1968]; $t = 18,657^{***}$). Bei der Regressionsanalyse ergab sich die Funktion $y' = 10,1 + 0,03 x$ (Abb. 4). Der zugehörige Korrelationskoeffizient ($r = 0,1027$) unterscheidet sich nicht signifikant von Null. Damit ließ sich für dieses Kollektiv eine Abhängigkeit der ALA-Ausscheidung von der Höhe des

- Mappes, R.: Zum Porphyrinschnelltest nach de Langen in Bleibetrieben. Zbl. Arbeitsmed. **16**, 303 (1966).
- Eine experimentelle Untersuchung der Koproporphyrinbestimmung im Harn nach Hoschek. Zbl. Arbeitsmed. **11**, 355 (1967).
- Hämoglobin- und Hämatokritwerte bei der Beurteilung von Bleigefährdeten. Zbl. Arbeitsmed. **3**, 72 (1969).
- Mauzerall, D., Granick, S.: The occurrence and determination of delta-aminolevulinic acid and porphobilinogen in urine. J. biol. Chem. **219**, 435 (1956).
- Mundschenk, H.: Über eine dünn-schichtchromatographische Trennung der freien Porphyrine und deren Isomere. J. Chromatogr. **25**, 380 (1966).
- Zur Trennung und Identifikation der freien Porphyrine und deren Isomere. J. Chromatogr. **38**, 106 (1968).
- Ostle, B.: Statistics in research. Ames, Iowa: Iowa State University Press 1966.
- Rimington, C., Belcher, R. V.: Separation of porphyrins in sephadex dextran gels. J. Chromatogr. **28**, 112 (1967).
- Sveinsson, S. L.: Spectrophotometric determination of uroporphyrin. Scand. J. clin. Lab. Invest. **2**, 209 (1950).
- Rimington, J.: Determination of urinary coproporphyrin and uroporphyrin. Unicam method sheet no. 67, Cambridge 1967.
- Reinkingh, W. A., Kampen, E. J. van.: Quantitative determination of copro- and uroporphyrin. Clin. chim. Acta **9**, 592 (1964).
- Schlegel, H., Nowacki, S.: Der Wert einer einfachen Delta-Aminolävulinsäurebestimmung für die werkärztliche Überwachung bleigefährdeter Arbeiter. Arbeitsmed. Sozialmed. Arbeitshyg. **11**, 308 (1968).
- Schwartz, S., Zieve, L., Watson, C. J.: Improved method for the determination of coproporphyrin and evaluation of factors influencing analysis. J. Lab. clin. Med. **37**, 843 (1951).
- Scott, C. R., Labbe, R. F., Nutter, J.: A rapid assay for urinary porphyrins by thin-layer chromatography. Clin. Chem. **13**, 6 (1967).
- Shuster, L.: The determination of delta-aminolevulinic acid. Biochem. J. **64**, 101 (1956).
- Weber, E.: Grundriß der Biologischen Statistik. Stuttgart: Gustav Fischer 1967.
- Weichardt, H., Bardodej, Z.: Beitrag zur Delta-Aminolävulinsäure- und Koproporphyrinbestimmung. Zbl. Arbeitsmed. **19**, 67 (1969).
- Schlegel, H., Zorn, H.: Die Beurteilung der Bleigefährdung mit Hilfe der Koproporphyrinbestimmung. Zbl. Arbeitsmed. **18**, 65 (1968).
- Wiechowski, W.: Die kritische Besprechung der Arbeit von Hoschek: „Eine neue Methode zur Schnellbestimmung des Porphyrins im Harn“. Dtsch. Gesundh.-Wes. **21**, 2328 (1968).
- Williams, M. K., Few, J. D.: A simplified procedure for the determination of urinary δ -aminolevulinic acid. Brit. J. industr. Med. **24**, 294 (1967).

Priv.-Doz. Dr. med. G. Lehnert
Institut für Arbeits- und Sozialmedizin
der Universität Erlangen-Nürnberg
8520 Erlangen, Schillerstraße 25

Lebenslauf

Am 22. September 1945 wurde ich, Christa Kade, als Tochter des praktischen Arztes Dr. med. Adolf Kade und seiner Ehefrau Maria, geb. Franz, in Hersbruck geboren.

1951 wurde ich eingeschult und besuchte die Volksschulen in Eysölden und Hilpoltstein. 1956 trat ich in das Gymnasium ein. Die ersten beiden Jahre verbrachte ich in Reichersbeuern, danach wechselte ich auf das Adam-Kraft-Gymnasium in Schwabach über, wo ich im Juni 1965 das Abitur ablegte.

Im Wintersemester 1965/66 begann ich mit dem Studium an der Friedrich-Alexander-Universität in Erlangen. Zunächst belegte ich Leibeserziehung, wechselte jedoch bereits im Sommersemester zur Medizin über. Nach fünf Semestern bestand ich die Ärztliche Vorprüfung. Nach dem Sommersemester 1971 möchte ich hier das Staatsexamen ablegen.

